

PROYECTO FONDEF DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO

INFORME FINAL

TÍTULO DEL PROYECTO: DESARROLLO DE ANTICUERPOS TERAPEUTICOS HUMANOS PARA EL TRATAMIENTO DEL SINDROME CARDIOPULMONAR POR H ANTAVIRUS (SCPH)

CÓDIGO DEL PROYECTO: ID14I10084

FECHA DE EMISION: 23/05/2017

FIRMA DEL (DE LA) DIRECTOR(A) DEL PROYECTO
Maria Inés Barria Carcamo

I. Acta De Término Del Proyecto

1.1 Identificación del proyecto

TITULO DEL PROYECTO	DESARROLLO DE ANTICUERPOS TERAPEUTICOS HUMANOS PARA EL TRATAMIENTO DEL SINDROME CARDIOPULMONAR POR H ANTAVIRUS (SCPH)
CÓDIGO FONDEF	ID14I10084
DIRECTOR(A) DEL PROYECTO	Maria Inés Barria Carcamo
INSTITUCIÓN(ES) BENEFICIARIA(S)	UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
EMPRESA Y OTRAS ENTIDADES ASOCIADAS	LABORATORIO PASTEUR S.A.

1.2 Ejecución del proyecto

FECHA DE TOMA DE RAZON POR LA CONTRALORÍA GENERAL DE LA REPÚBLICA	26/12/2014
DURACIÓN CONTRACTUAL	24
FECHA EFECTIVA DE INICIO	26/12/2014
FECHA EFECTIVA DE TÉRMINO	25/03/2017
DURACIÓN EFECTIVA	27

1.3 Plan de Continuidad

Nombre Institución Beneficiaria	Nombre Representante Legal	Firma
UNIVERSIDAD DE CONCEPCION	SERGIO ALFONSO LAVANCHY MERINO	Firma Electrónica

1.4 Tabla de Conformidad

Nombre Institución Empresa u Otra Entidad Socia	Nombre Representante Legal	Documento conformidad
LABORATORIO PASTEUR S.A.	ROBERTO GUILLERMO VEGA FERNANDEZ	Si

II. Informe Ejecutivo

2.1 Resumen Ejecutivo

Versión en Castellano

El síndrome cardiopulmonar por hantavirus (SCPH) es una enfermedad respiratoria severa caracterizada por falla respiratoria y shock cardio-respiratorio, el cual es causado por el virus Andes (ANDV) en Sudamérica. SCPH presenta una tasa de mortalidad de alrededor de 36% y cualquier persona que esté en contacto con roedores que sean portadores del virus está en riesgo de contraer SCPH, la transmisión ocurre de roedor a humano y en Chile y Argentina se han reportado casos escasos de transmisión humano-humano. En la actualidad no existen drogas antivirales o vacunas para combatir esta infección, por lo cual el desarrollo de un agente terapéutico eficaz es de alta prioridad. Esto es esencialmente importante en Chile, ya que el SCPH es un problema de salud pública debido a los altos costos de morbilidad y mortalidad asociados a la infección. Nuestra investigación se basa en la hipótesis de que la terapia con anticuerpos monoclonales (mAb) puede prevenir y/o disminuir las serias complicaciones asociadas con la infección por hantavirus. El objetivo de este proyecto fue desarrollar y caracterizar anticuerpos humanos neutralizantes contra las glicoproteínas del hantavirus, los cuales podrán ser utilizados como terapéuticos para tratar a los pacientes infectados con hantavirus o para prevenir las serias complicaciones en personas en riesgo de exposición al virus. De hecho, plasma de pacientes convalecientes han sido utilizados en transferencia pasiva en pacientes con SCPH reduciendo significativamente la tasa de mortalidad, lo cual apoya la idea de que la terapia basada en mAb puede resultar en una terapia exitosa para tratar a estos pacientes. Sin embargo, este enfoque tiene diversos inconvenientes; como por ejemplo la variabilidad entre donantes y su disponibilidad, riesgo de contraer infecciones por la transmisión de patógenos, entre otras. Para lograr nuestro objetivo se reclutó a una cohorte de pacientes sobrevivientes a la infección por hantavirus, los cuales fueron categorizados de acuerdo a su capacidad neutralizante. De esta manera se logró encontrar a pacientes “top neutralizadores” los cuales se utilizaron para aislar anticuerpos monoclonales 100% humanos. El logro de este proyecto fue ser capaces de aislar y caracterizar un anticuerpo 100% humano aislado de un paciente que sobrevivió al SCPH y que presenta altos niveles de anticuerpos neutralizantes (nAb). La caracterización de este anticuerpo permitió determinar que se une a la glicoproteína de ANDV en su conformación nativa. Más importante aún, el mAb humano tiene una capacidad neutralizante 4.5 veces más potente que el suero del paciente del cual fue aislado. En resumen, se pudo aislar un anticuerpo con características terapéuticas con el potencial de ser utilizado en humanos.

Versión en Inglés

Hantavirus cardiopulmonary syndrome (HCPS) is a severe respiratory disease characterized by respiratory failure and cardio-pulmonary shock, caused by Andes virus (ANDV) in South America. HCPS is fatal in around 36% of the people infected with the virus and anyone who comes in contact with rodents that carry Hantavirus is at risk of HCPS. Their mode of transmission is mouse-human but cases of person-to-person transmission have been reported in Chile and Argentina. To date, there is no specific treatment or vaccine for Hantavirus infection; development of an effective therapeutic agent is a high priority. This is mainly important in Chile. HCPS is major public health problem due to the high costs related to morbidity and mortality associated with the infection. Our research is based upon the hypothesis that monoclonal antibody (mAb) therapy can prevent and/or decrease the serious complications associated with hantavirus infection. The objective of this project was to develop and characterize human neutralizing antibodies against hantavirus

glycoproteins, which can be used as therapeutics to treat patients infected with hantavirus or to prevent the serious complications in people at risk of viral exposure. Actually, immune plasma infusion from convalescent patients have been used in patients with acute HCPS which resulted in reducing significantly the mortality rate, which supports the idea that a therapy based in mAb may result in a successful therapy to treat HCPS. However, this approach has several disadvantages; such as variability among donors and their availability, risk of infections due to the transmission of pathogens, among others. To achieve our goal we enrolled a cohort of patients who survived hantavirus infection, who were categorized according to their neutralizing capacity. In this manner we found "top neutralizers" patients that were used to isolate 100% human monoclonal antibodies. The achievement of this project was to isolate and characterize a 100% human antibody isolated from a patient who survived HCPS that presents high levels of neutralizing antibodies (nAb). The characterization of this antibody allowed determining that it binds to the ANDV glycoprotein in its native conformation. More importantly, the human mAb has a neutralizing capacity 4.5 times more potent than the serum of the patient from which it was isolated. In summary, was isolated an antibody with therapeutic characteristics with the potential to be used in humans.

2.2 Cuadro De Sintesis de Resultados y Objetivos

Objetivos Generales	
Nombre Objetivo	OBJETIVO GENERAL
Descripción	<p>OBJETIVO GENERAL: El objetivo de este estudio es desarrollar anticuerpos neutralizantes monoclonales humanos derivados de pacientes convalecientes infectados previamente con ANDV. Los anticuerpos humanos directamente aislados de las células B de memoria de los pacientes se caracterizarán mediante distintos criterios: por la unión a las glicoproteínas de ANDV y su capacidad de neutralización para posteriormente ser clasificados de acuerdo a su eficacia. Los anticuerpos monoclonales candidatos serán seleccionados en base a la fuerza de la unión, la singularidad del epítope y neutralización del virus. Los anticuerpos generados de esta manera representan una opción terapéutica potencial para el tratamiento pasivo de pacientes infectados y profilácticos en situaciones de alto riesgo. Si estos cócteles de anticuerpos demuestran ser eficaces tienen el potencial de poder reducir la tasa de mortalidad en las personas infectadas y proteger a los sujetos en ambientes de alto riesgo (trabajadores de la industria forestal, de la salud y agropecuarios, y que realicen actividades recreativas en zonas de riesgo como turismo).</p>
Objetivos Específicos	
Nombre Objetivo	OBJETIVO ESPECIFICO
Descripción	<p>El cebado de antígenos (o "antigen baiting") ha sido utilizado exitosamente para obtener anticuerpos monoclonales humanos específicos desde células B de memoria IgG+ de pacientes infectados utilizando proteínas de la envoltura viral como sondas.</p>
Nombre Objetivo	OBJETIVO ESPECIFICO
Descripción	<p>Individuos que presenten los más altos niveles de anticuerpos neutralizantes serán seleccionados para realizar el aislamiento de células B hanta-específicas. Posteriormente, se procederá a la identificación y aislamiento de células B hanta-específicas con las sondas desarrolladas anteriormente. Para luego amplificar, clonar y producir los anticuerpos.</p>
Nombre Objetivo	OBJETIVO ESPECIFICO
Descripción	<p>Para poder desarrollar una terapia efectiva contra SCPH es de suma importancia caracterizar las propiedades de los nuevos anticuerpos. Realizaremos dos etapas de caracterización. La primera etapa consistirá en estudiar la reactividad de los anticuerpos mediante a) ensayos de ELISA utilizando antígenos específicos como pseudovirus, b) ensayos de citometría de flujo. Si los anticuerpos presentan reactividad, se utilizarán para la segunda etapa de caracterización, la cual consistirá de a) ensayos de neutralización con pseudovirus y ensayos más demandantes como los que se describen en la sección de metodología. Esperamos completamente caracterizar entre 10-50 anticuerpos candidatos.</p>

RESULTADO

Tipo	Resultado de Producción
Nombre	Produccion de anticuerpos monoclonales contra Hantavirus cepa Andes ANDV

Descripción	Los anticuerpos monoclonales serán obtenidos desde células B de memoria de pacientes convalescientes que fueron previamente infectados con el virus Hanta cepa Andes (ANDV), estos anticuerpos serán obtenidos por medio del aislamiento, clonamiento y expresión de la región variable de IgH e IgL desde las células de los pacientes. El tratamiento debería utilizarse apenas se diagnostica la infección. Posiblemente, ante la alta sospecha ya que las reacciones adversas serían mínimas. Por otra parte, en los pacientes que ya han llegado muy graves (habitualmente por diagnóstico tardío), tendría mucho menor efecto aparentemente. Es complementario a las intervenciones descritas en las guías del Ministerio de Salud.
-------------	---

Descripción del Logro	El resultado de producción es un anticuerpo monoclonal 100% humano (denominado MIB22); el cual reconoce la glicoproteína del hantavirus ANDV en su conformación nativa, y que posee la capacidad de neutralizar el virus ANDV con el potencial de ser utilizado como terapéutico en humanos. Este anticuerpo fue aislado de un paciente que naturalmente sobrevivió a la infección por hantavirus y que posee altos niveles de anticuerpos neutralizantes. Importante es señalar, que MIB22 es 4.5 veces más potente que la IgG policlonal purificada del suero del paciente del cual fue aislado. El producto obtenido (MIB22) tiene ventajas comparativas ya que se puede producir en condiciones controladas en GMP facilities, pudiéndose calcular la dosis en mg/kg de peso corporal. Además, por ser un anticuerpo 100 % humano no generara inmunogenicidad-toxicidad, presentando alta biodisponibilidad, lo cual indudablemente entrega beneficios a los usuarios del producto.
-----------------------	---

Referencia Bibliográfica	
--------------------------	--

RESULTADO

Tipo	Resultado de Protección
Nombre	presentacion de solicitud de patente provisoria en USA y en Chile
Descripción	Para proteger los productos generados esperamos realizar al menos una solicitud de patente con respecto a los anticuerpos de uso terapéutico para tratar SCPH.

Descripción del Logro	Presentacion de patente provisional en Estados Unidos. Application number 62474681. Titulo de la invencion: Characterization of novel human monoclonal antibodies that neutralizes Andes Hantavirus Infection.
-----------------------	--

RESULTADO

Tipo	Resultado de Producción Científica (Ex "Otros")
Nombre	manuscrito aprobado
Descripción	Los resultados generados en este proyecto serán organizados para generar un manuscrito siempre sin interferir con la solicitud de patente del proyecto.

Descripción del Logro	Con respecto al resultado de producción científica, No se podrá lograr; esto se explica debido a que primero hay que proteger la propiedad intelectual para poder trabajar en el licenciamiento del producto, por lo cual no se podrá tener aprobado el manuscrito antes de la finalización del proyecto.
-----------------------	---

Referencia Bibliográfica	
--------------------------	--

RESULTADO

Tipo	Resultado de Formación de Capacidades (Ex "Otros")
Nombre	Entrenamiento y capacitación de profesionales y estudiantes para el desarrollo y
Descripción	Visita de un especialista extranjero para capacitar al equipo de trabajo en el uso de técnicas de ingeniería genética para el aislamiento, clonamiento y producción de anticuerpos monoclonales humanos.

Descripción del Logro	<p>Con respecto al resultado de Formación de Capacidades, originalmente se había propuesto: el entrenamiento y capacitación de profesionales y estudiantes para el desarrollo y producción de anticuerpos monoclonales humanos en Chile, a través de la visita de un especialista extranjero para capacitar al equipo de trabajo en el uso de técnicas de ingeniería genética para el aislamiento, clonamiento y producción de anticuerpos monoclonales humanos. Sin embargo, nuestros colaboradores internacionales no pudieron viajar antes de que se termine esta etapa del proyecto. Sin embargo, se realizaron distintas actividades para la Formación de Capacidades. De hecho tanto estudiantes como técnicos fueron capacitados en citometría de flujo y cell sorter, en la producción de partículas pseudotipadas y ensayos de neutralización. Además de la caracterización de anticuerpos mediante citometría de flujo.</p>
-----------------------	---

RESULTADO DE PRODUCCIÓN

Categoría	Cantidad Comprometida	Cantidad Lograda
Producto	1	1

RESULTADO DE PROTECCIÓN

Categoría	Cantidad Comprometida	Cantidad Lograda
Patente	1	1

RESULTADO DE PRODUCCIÓN CIENTÍFICA (EX "OTROS")

Categoría	Cantidad Comprometida	Cantidad Lograda
Publicación	1	No Hay

RESULTADO DE FORMACIÓN DE CAPACIDADES (EX "OTROS")

Categoría	Cantidad Comprometida	Cantidad Lograda
Capacidades profesionales desarrolladas o fortalecidas	1	No Hay

2.3 Informe financiero a la fecha de término

	Montos Comprometidos según Convenio por fuente de financiamiento	Monto Girado por Fondef	Gastos financiados por fuente de financiamiento	%
FONDEF	149.908.000	149.908.000	125.570.436	90,83 %
FONDEF	149.908.000	149.908.000	125.570.436	45,41 %
Institución(es) Beneficiaria(s)				
UNIVERSIDAD DE CONCEPCION	37.920.000	No Aplica	12.681.661	9,17 %
UNIVERSIDAD DE CONCEPCION	37.920.000	No Aplica	12.681.661	4,59 %
Empresas y otras Entidades Asociadas	0	No Aplica		0 %
Totales	187.828.000	149.908.000	138.252.097	50 %

Monto por Reintegrar		24.337.564		
Monto Reintegrado a FONDEF		(0)		
Costo Final del Proyecto		276.504.194		

2.4 Autoevaluación de la Ejecución del Proyecto

El(la) Representante Institucional de cada Institución Beneficiara
UNIVERSIDAD DE CONCEPCION
<p>Este proyecto FONDEF le permitió a la Universidad de Concepción tener acceso a una plataforma para la generación de anticuerpos monoclonales humanos, que en este caso fue utilizada para la generación de anticuerpos terapéuticos para tratar la infección por hantavirus. Específicamente, se pudo desarrollar y caracterizar un anticuerpo 100% humano, que neutraliza el virus hanta con el potencial de ser usado como terapéutico. Esto es sumamente importante, ya que es nueva tecnología que se está desarrollando en la Universidad. Además debemos señalar que la infección por hantavirus es de gran importancia para la región del Bio-Bio, por lo cual el desarrollo de este producto es un beneficio directo para el sistema de salud de la región y para el país. Este anticuerpo debería seguir caracterizándose en una segunda etapa del proyecto o con otros fondos concursables que se obtengan para este fin. El objetivo final es la producción del anticuerpo en estándar GMP para poder ser utilizado en un piloto en humanos y esperamos poder apoyar a los investigadores para cumplir este objetivo.</p>

El(la) Director(a) del proyecto
<p>La infección por hantavirus es un problema de salud pública de Chile, por lo cual somos nosotros los que debemos desarrollar las estrategias para tratar esta infección. Debido a la alta mortalidad, a que no existe vacuna ni antiviral para tratar esta enfermedad es de alta prioridad encontrar terapéuticos. De este modo, este proyecto permitió aislar y caracterizar un anticuerpo 100% humano -aislado de un paciente con altos niveles de anticuerpos neutralizantes y que sobrevivió a la infección- con alta capacidad neutralizante y con el potencial de ser utilizado como terapéutico en humanos para tratar la infección por hantavirus. En esta primera etapa del proyecto se pudo caracterizar la unión del anticuerpo y su capacidad neutralizante. Se espera en una segunda etapa del proyecto seguir con la caracterización. Sin embargo; una etapa fundamental del proyecto es la producción del anticuerpo en estándar GMP para su posterior uso en un piloto en humanos para testear seguridad y eficacia. Es de esperar que este proyecto sea apoyado por autoridades, médicos, y la comunidad, así como por los fondos concursables para poder llegar a realizar esta tan importante fase del estudio. Estamos convencidos que este anticuerpo 100% humano es la mejor y más segura opción que tenemos hoy para tratar a los pacientes infectados con hantavirus, por lo cual no cabe duda que debemos seguir explorándola.</p>

2.5 Propuesta de Continuidad de la(s) Institucion(es) Beneficiaria(s)

Debido a los promisorios resultados del proyecto, no cabe duda que la UDEC seguirá apoyando la investigación para desarrollar y caracterizar el anticuerpo 100% humano con capacidad de neutralizar el virus hanta con potencial terapéutico. Para esto la UDEC firmó un convenio de colaboración científico-tecnológico con Ichor Biologics de Estados Unidos con el propósito de seguir explorando juntos el potencial terapéutico del anticuerpo, en este convenio se dejaron establecidas las bases de colaboración científica, de propiedad intelectual y de un futuro licenciamiento del producto. De esta forma Ichor Biologics realizó una solicitud de patente provisional en USA. Para dar continuidad al proyecto; además se postulará a la segunda etapa del concurso FONDEF IDEA en dos etapas. Además, debemos destacar que Ichor Biologics se encuentra en conversaciones con distintas entidades para evaluar potenciales inversores e interesados en el producto. De esta manera, está trabajando en un convenio de colaboración con el NIH para probar el anticuerpo en animales en un laboratorio de bioseguridad nivel 4 (BSL-4). Junto a lo anterior, nos encontramos explorando la posibilidad del apoyo de empresas Chilenas tanto para la segunda etapa del proyecto FONDEF como para su licenciamiento/distribución futura.